

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

BEST AVAILABLE COPY

(11)Publication number : 2003-106950

(43)Date of publication of application : 09.04.2003

---

(51)Int.Cl. G01N 1/00  
G01N 35/10  
H01S 3/00  
// G01N 37/00

---

(21)Application number : 2001-297974

(71)Applicant : NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED  
INDUSTRIAL & TECHNOLOGY

(22)Date of filing : 27.09.2001

(72)Inventor : TANAKA YOSHIO  
MISAWA HIROAKI  
KIUCHI YOSUKE  
FUKUOKA SATOSHI

---

## (54) METHOD FOR POURING MINUTE LIQUID DROPLET OR MINUTE AIR BUBBLE

### (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for pouring a minute liquid droplet or a minute air bubble injected from a minute nozzle into a minute vessel smoothly.

SOLUTION: The minute liquid droplet or the minute air bubble injected from the nozzle into a medium is caught at a focus position or the center of scanning of laser beam to move the focus position or the center of scanning or catch it on scanning orbit or in scanning cavity of laser beam, and the scanning orbit or the scanning cavity is moved to guide it into the minute vessel in order to pour the minute liquid droplet or the minute air bubble therein.

---

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

26.03.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the  
examiner's decision of rejection or application converted  
registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of  
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of extinction of right]

**\* NOTICES \***

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

**CLAIMS**

---

[Claim(s)]

[Claim 1] The impregnation approach of of the minute drop or minute air bubbles characterized by guiding in a minute container by catching into a medium the minute drop or minute air bubbles injected from the nozzle focusing on the focal location of a laser beam, or a scan, and moving at the focal location or the scan core.

[Claim 2] The impregnation approach of of the minute drop or minute air bubbles characterized by guiding in a minute container by catching into a medium the minute drop or minute air bubbles injected from the nozzle on the scan orbit of a laser beam, or in a scan cavity, and moving in the scan orbit or a scan cavity.

[Claim 3] The impregnation approach according to claim 1 or 2 which is the minute drop or minute air bubbles by which a minute drop or one minute air bubbles was injected at a time from two or more minute nozzles.

[Claim 4] The impregnation approach according to claim 1 or 2 which is the minute drop or minute air bubbles by which a minute drop or minute air bubbles was injected one by one from one minute nozzle.

[Claim 5] The impregnation approach according to claim 1 or 2 which is the minute drop or minute air bubbles by which a minute drop or minute air bubbles is injected one by one [ plurality ] per nozzle from two or more minute nozzles.

[Claim 6] The impregnation approach according to claim 1 to 5 which controls the path and the number of a minute drop or minute air bubbles by changing at least one factor chosen from injection pressure, injection time amount, and \*\*\*\*\*, observing the condition of the minute drop or minute air bubbles injected from a minute nozzle by the image processing.

[Claim 7] The impregnation approach of claim 1 thru/or 6 publications performed while impressing a supersonic wave near a minute nozzle tip.

[Claim 8] Claim 1 which makes a particle contain in a minute drop thru/or the impregnation approach given in seven.

---

[Translation done.]

**\* NOTICES \***

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

## DETAILED DESCRIPTION

---

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the approach for pouring in the particle of the liquid of the amount of pico liters, a gas, or micrometer size into a minute container from the FEMUTO liter injected from the minute nozzle.

[0002]

[Description of the Prior Art] In each field, such as medicine, a chemical analysis, and environmental measurement, constituent children, such as mixing and the system of reaction, a detection system, an electronic circuitry, and an actuation pump, are microfilmed recently. Although it is performed that have been the technique which IC-izes the whole system, and a technical problem with the so-called important development of mu-TAS, and the minute amount drop of an inspection reagent is dropped as one of them in the micro container arranged in the shape of an array using a minute nozzle It was difficult to pour in the liquefied reagent of the same AREIHE plurality in an exact amount in this approach, or to pour in a solid-state or gas-like reagent.

[0003] On the other hand, the method of operating the particle and drop of micro size using a photo pincette or laser scan manipulation is learned, and operating a reagent and a gene on the occasion of the analysis and analysis in a minute field of a reaction in the chemistry field or the bionics field using this approach is examined.

[0004] However, in order to have to operate it, preparing the drop and particle which it is going to operate in large quantities by this approach, and observing that part under a microscope, Most of drops and particles remain, while not having been used by them, they have the problem that this causes the failure of the disturbance at the time of laser beam condensing, or the path at the time of migration actuation, and had become an important technical problem at the time of these solutions pouring only the initial complement of a reagent into a predetermined minute container smoothly.

[0005]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] This invention is made for the purpose of offering the approach for pouring in smoothly the minute drop and minute air bubbles which were injected from the minute nozzle into a minute container.

[0006]

[Means for Solving the Problem] If this invention persons use a laser manipulation technique as a result of repeating research variously about the approach of pouring in the minute drop or minute air bubbles injected from the minute nozzle made very difficult depending on the Prior art into a minute container Based on a header and this knowledge, it came to make this invention for the minute drop or minute air bubbles made to inject and generate the liquid or gas of the amount of pico liters from a minute nozzle being poured in simply in a minute container from a FEMUTO liter.

[0007] Namely, by this invention's catching into a medium the minute drop or minute air bubbles injected from the nozzle focusing on the focal location of a laser beam, or a scan, and moving at the focal location or the scan core The impregnation approach of of the minute drop or minute air bubbles characterized by guiding in a minute container, And the impregnation approach of of the minute drop or minute air bubbles characterized by guiding in a minute container is offered by catching into a medium the minute drop or minute air bubbles injected from the nozzle on the scan orbit of a laser beam, or in a scan cavity, and moving in the scan orbit or a scan cavity.

[0008]

[Embodiment of the Invention] Next, this invention approach is explained according to an accompanying drawing. Drawing 1 is a microphotography in which the condition of catching in the focal location (+ mark) of a laser beam, the minute drop 3, for example, the minute liquid paraffin drop, injected into the

medium 1, for example, water, and moving from the minute nozzle 2, for example, a micropipette, is shown. The liquid paraffin of ultralow volume injected by injection \*\* Pi and the injection time amount Ti into water 1 from the micropipette 2 in this drawing The oil droplet 3 with a diameter of about 3 micrometers is formed, and it is caught by [ drawing 1 (a)] and the focal location of the laser beam which has the first oil droplet 3 in the cross-joint location of drawing 1 R> 1 (a) further when oil droplet 3' of between Ti seconds, in addition a degree is injected in Pi [ drawing 1 (b)]. And if it is moved to a lower left location, Pi is added to [ drawing 1 (c)] and a pan during Ti second and 3'' of oil droplets is injected, oil droplet 3' will move the oil droplet 3 caught in this way next to an oil droplet 3 by 2 Motome's laser beam [ drawing 1 (d)]. Therefore, if the minute container is arranged in the lower left location, an oil droplet 3, 3', and 3''— can be poured in into this one by one.

[0009] Next, drawing 2 injects two minute nozzles 2, the minute drop 3 from which the class differed from 2', and 3'. the minute container 7 and 7' — it is an explanatory view in the case of pouring in inside, and from the minute nozzle 2, it is injected in the minute container 7 produced by processing a drop 3 and the transparence base 6 from which drop 3' was filled with the medium 1 from minute nozzle 2', and the 7'upper part, and is caught by laser beams A and B, respectively. And the drop 3 caught here and 3' can be correctly poured in into the minute container 7 and 7' by moving the focal location of each laser beams A and B condensed with the lens 8 in three dimensions from [ near the nozzle ] to a minute container base location.

[0010] Although the case where the drop after injection adheres at the tip of a nozzle, and there is a line crack certainly produces injection of the drop from such a minute nozzle with the relation of the property of the drop to inject, the nozzle quality of the material, and a configuration, [ no ] In such a case, the ultrasonic generating components 5, such as the minute water tank wall side 4 and a piezoelectric-ceramics thin film formed or attached in 4', and 5' can perform dissociation and injection from a nozzle of a drop in the solution near the minute nozzle tip by irradiating a supersonic wave. Moreover, the path of the drop to inject and the number are performed by changing injection pressure, injection time amount, and \*\*\*\*\*.

[0011] A particle content drop can also be made to inject from the minute nozzle 2 and 2' instead of a drop in this invention approach. In this case, by making the class of drop the same as a medium, a drop part disappears and it will be emitted by only the contained particle into a medium at the same time a drop separates from a minute nozzle.

[0012] Moreover, if a hydrophilic property or hydrophobic processing is carried out for the minute container base according to the class of drop to pour in, the immobilization after impregnation is also possible. Processing of carrying out UV irradiation, after pouring in the drop and particle of ultraviolet-rays hardenability into the same minute container can perform immobilization in the case of a particle.

[0013] In addition, when catching and pouring in the drop and particle of a low refractive index from the refractive index of a medium 1, the laser scan manipulation method which scans the surroundings of a drop is used.

[0014] Next, drawing 3 is a system chart for explaining one example of the system configuration for moving the focal location of two laser beams in three dimensions into a minute container near the minute nozzle. In this drawing, a path is changed into the laser beam from the light source 10 with a beam expander 11. a half-wave plate 12 — a passage — the 1st — polarization beam splitter 13 and 13' decomposes — having — respectively — electromagnetism — so that the focal position coordinate XYZ under a microscope may become a desired location after minding a shutter 14 and 14' The path is controlled by the focal impaction efficiency device 15 and 15' which consist of the galvanomirror pairs and focal repositioning lenses which are controlled by Computer Cp.

[0015] After considering as the same axle by the second polarization beam splitter 16 and 16' again, the laser beam into which the above was decomposed is made in agreement with the shaft of epi-illumination light by the relay lens 17, is introduced in a microscope 18, is condensing and irradiating each so that it may become wavelength size extent, for example, the spot size of about 1. micrometer,

near the minute nozzle with a condenser lens 8, and catches a injection drop. Then, as drawing 2 was already described, a drop can be correctly poured in by moving the focal location in three dimensions to the location of the desired minute container 7 by the focal impaction efficiency device 15 and 15'.

[0016] Under the present circumstances, since interference is not caused since the polarization direction intersects perpendicularly, therefore intensity distribution do not change with the relative positions of two beams, two laser beams can catch and pour in the drop made into the purpose in the condition of having been stabilized in each laser beam. Moreover, the moving trucking, the passing speed, the scan location, the scan speed, the synchronous scan phase contrast, and the scanning pattern of a focal location of two laser beams can be automatically changed according to the purpose by observing prehension by the condition of injection of a drop, and the laser beam, and a conveyance condition with CCD camera 19, and processing the image with an image processing system 20.

[0017] Thus, in this invention approach, as shown in drawing 1, two or more minute drops injected one by one can be correctly poured in into a minute container per nozzle from the minute drop injected one piece at a time from two or more minute nozzles as shown not only in the minute drop injected one by one from one minute nozzle but in drawing 2, or two or more minute nozzles.

[0018] And the path and the number of a minute drop are controllable by the data measured in advance by changing at least one factor chosen from injection pressure, injection time amount, and \*\*\*\*\*, observing the condition of the minute drop injected from a minute nozzle by the image processing on the occasion of these impregnation.

[0019] As mentioned above, although the minute drop or the particle content minute drop was injected in the liquid medium and the example using the focal location of a laser beam explained this invention approach, when migration of the minute air bubbles injected in the liquid medium from the minute nozzle and a scan core, a scan orbit, or a scan cavity is used, it can pour in into a predetermined minute container similarly. In this case, it is advantageous to make opening of a container into facing down, to turn a pars basilaris ossis occipitalis upward, and to carry out uptake of the minute air bubbles.

[0020]

[Example] Next, an example explains this invention to a detail further.

[0021] In the system shown in example 1 drawing 2 or drawing 3 as a laser beam for drop prehension Nd of continuous oscillation : using an YAG laser (wavelength of 1064nm, linearly polarized light) to what filled with distilled water (refractive index 1.33) the minute tank which has on a base the minute container which carried out etching processing and created microscope cover glass Prehension of the minute drop (a liquid paraffin, refractive index 1.46) injected from the minute nozzle which processed and created the glass capillary by irradiating two laser beams from a lower part through the oil immersion objective lens (one 100 times the scale factor of this) of a microscope, and impregnation to a minute container were performed. That is, the result of having observed under the microscope signs that control injection pressure, injection time amount, and \*\*\*\*\* by the pump, injected a total of every one drops [ two ] with a magnitude of 3 micrometers, caught and moved by the photo pincette method according each to two laser beams from a minute nozzle, and it poured in to a minute container is shown in drawing 1.

[0022] Drawing 1 (a) is in the condition after adding setting injection time amount (for 0.1 seconds) about injection pressure (3000hPa) at a minute nozzle, and one drop with a magnitude of 3 micrometers is formed at the tip of a nozzle. The white cross joint in drawing carries out the image processing of the focal location of the laser beam set up near the nozzle tip, and shows it on real time. Drawing 1 (b) is in the condition after applying the 2nd injection pressure (3000hPa) for 0.1 seconds, and the drop at the tip of a nozzle is injected and it shows the condition of having been caught by the focal location of the laser beam in a white cross-joint location. Under the present circumstances, the following drop is prepared at the tip of a nozzle. Drawing 1 (c) shows the condition of having moved the caught drop to the minute container location by the computer control of the focal impaction efficiency device 15 of drawing 3. After drawing 1 (d) applies the 3rd [ further ] injection pressure (3000hPa) for 0.1 seconds and injects

the 2nd drop, it catches a drop with 2 Motome's beam, and shows the condition of having arranged in the direction of X to the location of the next door of the drop of drawing 1 (c).

[0023] Using the same system as example 2 example 1, by changing injection pressure, injection time amount, and \*\*\*\*\*, a total of every two one-piece drops from which the path differed was injected, and it caught and moved by the photo pincette method according each to a laser beam, and poured in to the minute container. Drawing 4 shows the condition of having put the drop of two injected size in order in the direction of Y on a minute container after catching each with two beams. It turns out that the drop from which magnitude differs is injected alternatively, and they can be moved and poured into a precision by controlling injection pressure, injection time amount, and \*\*\*\*\* by this.

[0024] This invention is not limited to the above example and can carry out the design change of the optical system of laser beam installation, the location of a minute nozzle and an ultrasonic generating component, a configuration, the number, etc. suitably.

[0025]

[Effect of the Invention] Construction of the highly sensitive chemical reaction place of mu-TAS or micrometer order without generating and contamination of a disturbance place with the reagent of an excessive amount and the growing up space of a microorganism is attained according to this invention, the automatic impregnation to the array-like container of micron size and immobilization are not only attained in the liquid, the gas, and the particle-like reagent of ultralow volume for building mu-TAS, but, and it also becomes possible to perform the reaction and control of growth by it.

---

[Translation done.]

#### \* NOTICES \*

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

---

#### DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] The microphotography Fig. in which the drop injected from the minute nozzle shows the process by which conveyance impregnation is carried out by this invention.

[Drawing 2] The explanatory view showing one example of the impregnation approach of this invention.

[Drawing 3] The system chart showing one example of the configuration of this invention.

[Drawing 4] The microphotography Fig. in which injecting the drop from which a path differs and showing the condition that migration impregnation was carried out.

[Description of Notations]

1 Medium

2 and 2' -- a minute nozzle

3 and 3' -- a minute drop

4 and 4' -- a minute water tank wall side

5 5'supersonic-wave generating component

6 Transparence Substrate Ingredient

7 and 7' -- a minute container  
8 Condenser Lens  
9 Pump  
10 Laser Light Source  
Eleven beam expanders  
12 Half-wave Plate  
13 and 13' -- the 1st polarization beam splitter  
14 and 14' -- electromagnetism -- a shutter  
15 15' focal impaction efficiency device  
16 and 16' -- the 2nd polarization beam splitter  
17 Relay Lens  
18 Microscope  
19 CCD Camera  
20 Image Processing System

---

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-106950

(P2003-106950A)

(43) 公開日 平成15年4月9日(2003.4.9)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード <sup>*</sup> (参考)
G 0 1 N 1/00	1 0 1	G 0 1 N 1/00	1 0 1 K 2 G 0 5 2
35/10		H 0 1 S 3/00	A 2 G 0 5 8
H 0 1 S 3/00		G 0 1 N 37/00	1 0 1 5 F 0 7 2
// G 0 1 N 37/00	1 0 1	35/06	B

審査請求 未請求 請求項の数8 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願2001-297974(P2001-297974)

(22) 出願日 平成13年9月27日(2001.9.27)

(71) 出願人 301021533

独立行政法人産業技術総合研究所

東京都千代田区霞が関1-3-1

(72) 発明者 田中 芳夫

香川県高松市林町2217番14 独立行政法人

産業技術総合研究所四国センター内

(72) 発明者 三澤 弘明

徳島県徳島市八万町大坪232-1 大坪住宅

1-31

(74) 代理人 100071825

弁理士 阿形 明

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微小液滴又は微小気泡の注入方法

(57) 【要約】

【課題】 微小ノズルから射出された微小液滴や微小気泡を円滑に微小容器中に注入するための方法を提供する。

【解決手段】 媒質中へノズルから射出された微小液滴又は微小気泡を、レーザ光の焦点位置又は走査中心で捕捉し、その焦点位置又は走査中心を移動するか、レーザ光の走査軌道上又は走査空洞内に捕捉し、その走査軌道又は走査空洞を移動することにより、微小容器内に誘導して微小液滴又は微小気泡を注入する。



(2)

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 媒質中へノズルから射出された微小液滴又は微小気泡をレーザ光の焦点位置又は走査中心で捕捉し、その焦点位置又は走査中心を移動することにより、微小容器内に誘導することを特徴とする微小液滴又は微小気泡の注入方法。

【請求項2】 媒質中へノズルから射出された微小液滴又は微小気泡をレーザ光の走査軌道上又は走査空洞内に捕捉し、その走査軌道又は走査空洞を移動することにより、微小容器内に誘導することを特徴とする微小液滴又は微小気泡の注入方法。

【請求項3】 微小液滴又は微小気泡が複数個の微小ノズルから1個ずつ射出された微小液滴又は微小気泡である請求項1又は2記載の注入方法。

【請求項4】 微小液滴又は微小気泡が1個の微小ノズルから順々に射出された微小液滴又は微小気泡である請求項1又は2記載の注入方法。

【請求項5】 微小液滴又は微小気泡が複数個の微小ノズルからノズル1個当たり複数の順々に射出される微小液滴又は微小気泡である請求項1又は2記載の注入方法。

【請求項6】 画像処理により微小ノズルから射出される微小液滴又は微小気泡の状態を観測しながら、射出圧、射出時間及び維持圧の中から選ばれた少なくとも1つのファクターを変えることにより、微小液滴又は微小気泡の径及び個数を制御する請求項1ないし5のいずれかに記載の注入方法。

【請求項7】 微小ノズル先端付近に超音波を印加しながら行う請求項1ないし6記載の注入方法。

【請求項8】 微小液滴中に微粒子を含有させる請求項1ないし7記載の注入方法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、微小ノズルから射出されたフェムトリットルからピコリットル量の液体、気体又はマイクロメートルサイズの微粒子を微小容器内に注入するための方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】最近、医療、化学分析、環境計測などの各分野において、混合・反応系、検出系、電子回路、作動ポンプなどの構成員子をマイクロ化して、システム全体をIC化する技術、いわゆる $\mu$ -TASの開発が重要な課題となっており、その一つとして、検査試薬の微量液滴をアレイ状に配置されたマイクロ容器内に微小ノズルを利用して滴下することが行われているが、この方法では同一アレイへ複数の液状試薬を正確な量で注入したり、固体又は気体状試薬を注入することが困難であった。

【0003】他方、光ピンセットやレーザ走査マニピュレーションを用いてマイクロサイズの微粒子や液滴を操

2

野や生物工学分野における微小領域での反応の解析や分析に際し、試薬や遺伝子を操作することが検討されている。

【0004】しかしながら、この方法では、操作しようとする液滴や微粒子を大量に用意し、その一部を顕微鏡下で観察しながら操作しなければならないため、大部分の液滴や微粒子は利用されないまま残り、これがレーザ光集光時の外乱や移動操作時の経路の障害を引き起こすという問題があり、これらの解決が試薬の必要量のみを、所定の微小容器に円滑に注入する際の重要な課題となっていた。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、微小ノズルから射出された微小液滴や微小気泡を円滑に微小容器中に注入するための方法を提供することを目的としてなされたものである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、従来の技術によっては非常に困難とされていた微小ノズルから射出された微小液滴又は微小気泡を微小容器内に注入する方法について種々研究を重ねた結果、レーザマニピュレーション技術を利用すれば、フェムトリットルからピコリットル量の液体又は気体を微小ノズルから射出して発生させた微小液滴又は微小気泡を微小容器内に簡単に注入しうることを見出し、この知見に基づいて本発明をなすに至った。

【0007】すなわち、本発明は、媒質中へノズルから射出された微小液滴又は微小気泡をレーザ光の焦点位置又は走査中心で捕捉し、その焦点位置又は走査中心を移動することにより、微小容器内に誘導することを特徴とする微小液滴又は微小気泡の注入方法、及び媒質中へノズルから射出された微小液滴又は微小気泡をレーザ光の走査軌道上又は走査空洞内に捕捉し、その走査軌道又は走査空洞を移動することにより、微小容器内に誘導することを特徴とする微小液滴又は微小気泡の注入方法を提供するものである。

【0008】

【発明の実施の形態】次に、本発明方法を、添付図面に従って説明する。図1は微小ノズル2、例えばマイクロピペットから、媒質1例えば水の中へ射出された微小液滴3例えば微小流動パラフィン滴をレーザ光の焦点位置(+印)に捕捉して移動する状態を示す顕微鏡写真である。この図においてマイクロピペット2から水1の中へインジェクション圧 $P_i$ 、インジェクション時間 $T_i$ で射出された極微量の流動パラフィンは、直径約 $3\mu\text{m}$ の油滴3を形成し[図1(a)]、さらに $P_i$ を $T_i$ 秒間加えて、次の油滴3'が射出されると最初の油滴3が図1(a)の十字位置にあるレーザ光の焦点位置に捕捉される[図1(b)]。そして、このように捕捉された油滴3は左下位置へ移動され[図1(c)]、さらに $P_i$

(3)

をTi秒間加えて油滴3''が射出されると、2本目のレーザ光により油滴3'は油滴3の隣へ移動する〔図1(d)〕。したがって、左下の位置に微小容器を配置しておけば油滴3, 3', 3''を順次この中へ注入することができる。

【0009】次に図2は、2本の微小ノズル2, 2'より種類の異なった微小液滴3, 3'を射出し、微小容器7, 7'内に注入する場合の説明図であって、微小ノズル2より液滴3、微小ノズル2'より液滴3'が媒質1で満たされた透明基盤6を加工することによって作製された微小容器7, 7'上部へ射出され、それぞれレーザ光A及びBに捕捉される。そして、ここで捕捉された液滴3, 3'は、レンズ8により集光された各レーザ光A、Bの焦点位置をノズル近傍から微小容器底辺位置まで三次元的に移動させることによって、正確に微小容器7, 7'の中に注入することができる。

【0010】このような微小ノズルからの液滴の射出は、射出する液滴の性質とノズル材質、形状の関係により、射出後の液滴がノズル先端に付着して確実に行われない場合が生じるが、そのような場合は、微小水槽壁面4, 4'に形成あるいは取り付けられた圧電磁器薄膜などの超音波発生素子5, 5'により、微小ノズル先端近傍の溶液に超音波を照射することで、液滴のノズルからの解離と射出を行うことができる。また、射出する液滴の径、個数は、射出圧、射出時間、維持圧を変更することにより行われる。

【0011】本発明方法においては、液滴の代りに微粒子含有液滴を微小ノズル2, 2'から射出させることもできる。この場合、液滴の種類を媒質と同じにすることにより、液滴が微小ノズルから離れると同時に液滴部分が消失し、含有されていた微粒子のみが媒質中に放出された状態になる。

【0012】また、注入する液滴の種類に応じて、微小容器底面を親水性又は疎水性の処理をしておけば、注入後の固定化も可能である。微粒子の場合の固定化は、紫外線硬化性の液滴と微粒子を同じ微小容器内に注入後に紫外線照射するなどの処理によって行うことができる。

【0013】なお、媒質1の屈折率より低屈折率の液滴や微粒子を捕捉、注入する場合は、液滴の周りを走査するレーザ走査マニピュレーション法を使用する。

【0014】次に、図3は、2本のレーザ光の焦点位置を微小ノズル近傍から微小容器内まで三次元的に移動するためのシステム構成の1例を説明するためのシステム図であり、この図において光源10からのレーザ光は、ビームエクスパンダ11で径を変換され、半波長板12を通り、第1偏光ビームスプリッタ13、13'により分解され、それぞれ電磁シャッタ14、14'を介した後に、顕微鏡下での焦点位置座標XYZが所望の位置になるように、コンピュータCpによって制御されるガルバノミラー対及び焦点位置変更レンズで構成される焦点

位置移動機構15、15'により経路が制御されている。

【0015】上記の分解されたレーザ光は、再び第二偏光ビームスプリッタ16、16'で同軸とされた後、リレーレンズ17により落射照明光の軸と一致させて顕微鏡18内に導入し、各々を集光レンズ8により波長サイズ程度、例えば1μm程度のスポットサイズに微小ノズル近傍でなるように集光して照射することで、射出液滴を捕捉する。その後、図2においてすでに述べたように、焦点位置移動機構15、15'で、その焦点位置を所望の微小容器7の位置まで三次元的に移動することで、正確に液滴を注入することができる。

【0016】この際、2本のレーザ光は偏光方向が直交するので干渉を起こすことはなく、したがって、2本のビームの相対位置により強度分布が変化することはないので、各々のレーザ光で安定した状態で目的とする液滴を捕捉、注入できる。また、2本のレーザ光の焦点位置の移動経路、移動速度、走査位置、走査速度、同期走査位相差及び走査パターンは、液滴の射出の状態、レーザ光による捕捉、運搬状態をCCDカメラ19で観測し、その画像を画像処理装置20で処理することにより、その目的に応じて自動的に変更することができる。

【0017】このようにして、本発明方法においては、図1に示したように、1個の微小ノズルから順々に射出される微小液滴のみでなく、図2に示すように複数個の微小ノズルから1個ずつ射出される微小液滴あるいは複数個の微小ノズルからノズル1個当たり複数の順々に射出される微小液滴を正確に微小容器内に注入することができる。

【0018】そして、これらの注入に際しては、画像処理により微小ノズルから射出される微小液滴の状態を観測しながら、あるいは事前に測定したデータにより、射出圧、射出時間及び維持圧の中から選ばれた少なくとも1つのファクターを変えることにより、微小液滴の径及び個数を制御することができる。

【0019】以上、本発明方法について、液体媒質中に微小液滴又は微粒子含有微小液滴を射出し、レーザ光の焦点位置を用いた例で説明したが、微小ノズルから液体媒質中に射出された微小気泡及び走査中心、走査軌道又は走査空洞の移動を用いた場合も同様にして所定の微小容器中に注入することができる。この場合は、容器の開口部を下向きとし、底部を上向きにして、微小気泡を捕集するのが有利である。

【0020】

【実施例】次に、実施例により本発明をさらに詳細に説明する。

【0021】実施例1

図2又は図3に示すシステムにおいて、液滴捕捉用のレーザ光として、連続発振のNd:YAGレーザ(波長1064nm、直線偏光)を用い、顕微鏡カバーガラスを

(4)

5

エッチング処理して作成した微小容器を底面に有する微小水槽を蒸留水（屈折率1.33）で満たしたものに、顕微鏡の油浸対物レンズ（倍率100倍）を通して下方より2本のレーザ光を照射することで、ガラスキャピラリを加工して作成した微小ノズルより射出した微小液滴（流動パラフィン、屈折率1.46）の捕捉と、微小容器への注入を行った。すなわち、微小ノズルよりポンプで射出圧、射出時間、維持圧を制御して、大きさ3 $\mu$ mの液滴を1個ずつ計2個射出し、各々を2本のレーザ光による光ピンセット法で捕捉、移動して微小容器へ注入を行う様子を顕微鏡で観察した結果を図1に示す。

【0022】図1（a）は、微小ノズルに射出圧（3000hPa）を設定射出時間（0.1秒間）加えた後の状態であり、ノズル先端に大きさ3 $\mu$ mの液滴が1個形成される。図中の白十字はノズル先端近傍に設定したレーザ光の焦点位置を画像処理してリアルタイムで示したものである。図1（b）は、2回目の射出圧（3000hPa）を0.1秒間加えた後の状態であり、ノズル先端の液滴が射出され、白十字位置にあるレーザ光の焦点位置に捕捉された状態を示している。この際、ノズル先端には次の液滴が準備されている。図1（c）は、捕捉された液滴を図3の焦点位置移動機構15のコンピュータ制御により、微小容器位置まで移動した状態を示している。図1（d）は、さらに3回目の射出圧（3000hPa）を0.1秒間加えて2個目の液滴を射出した後、2本目のビームで液滴を捕捉し、図1（c）の液滴の隣の位置へX方向に並べた状態を示している。

#### 【0023】実施例2

実施例1と同様のシステムを用い、射出圧、射出時間、維持圧を変更することで、径の異なった液滴を1個ずつ計2個射出し、各々をレーザ光による光ピンセット法で捕捉、移動して微小容器へ注入を行った。図4は、射出された大小2個の液滴を2本のビームで各々を捕捉した後、微小容器上のY方向に並べた状態を示している。これにより、射出圧、射出時間、維持圧を制御することで、大きさの異なる液滴を選択的に射出し、それらを精密に移動、注入できることが分かる。

【0024】本発明は、以上の実施例に限定されるものではなく、レーザ光導入の光学系、微小ノズルと超音波

6

発生素子の位置、形状及び個数など、適宜設計変更できるものである。

#### 【0025】

【発明の効果】本発明によれば、 $\mu$ -TASを構築するための極微量の液体、気体及び粒子状試薬をミクロンサイズのアレイ状容器への自動的な注入、固定化が可能になるばかりでなく、過剰量の試薬による外乱場の発生や汚染のない、感度のよい $\mu$ -TASやマイクロメートルオーダーの化学反応場、微生物の成育場の構築が可能となり、それによってその反応や成長の制御を行うことも可能となる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明によって、微小ノズルより射出された液滴が、運搬注入される過程を示す顕微鏡写真図。

【図2】 本発明の注入方法の1例を示す説明図。

【図3】 本発明の構成の1例を示すシステム図。

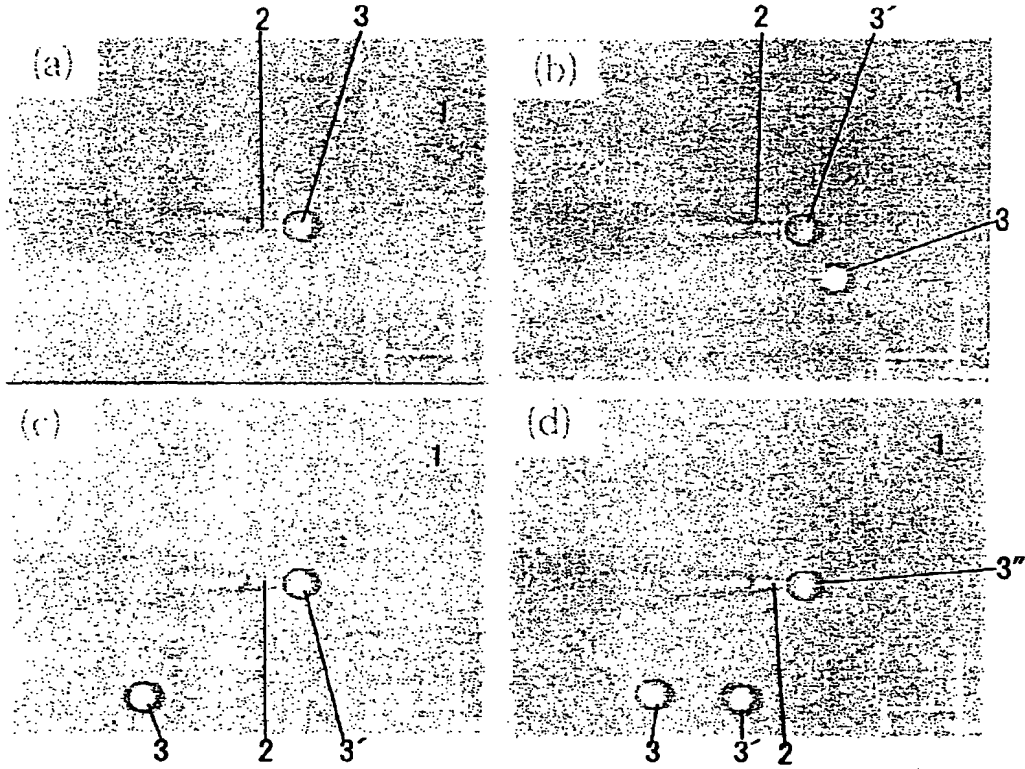
【図4】 径の異なる液滴が射出、移動注入された状態を示す顕微鏡写真図。

#### 【符号の説明】

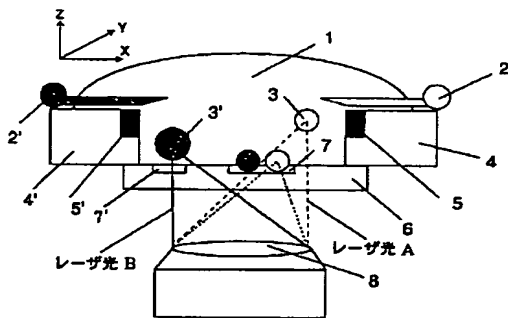
- 1 媒質
- 2, 2' 微小ノズル
- 3, 3' 微小液滴
- 4, 4' 微小水槽壁面
- 5, 5' 超音波発生素子
- 6 透明基板材料
- 7, 7' 微小容器
- 8 集光レンズ
- 9 ポンプ
- 10 レーザ光源
- 11 ビームエキスパンダ
- 12 半波長板
- 13, 13' 第1偏光ビームスプリッタ
- 14, 14' 電磁シャッター
- 15, 15' 焦点位置移動機構
- 16, 16' 第2偏光ビームスプリッタ
- 17 リレーレンズ
- 18 顕微鏡
- 19 CCDカメラ
- 20 画像処理装置

(5)

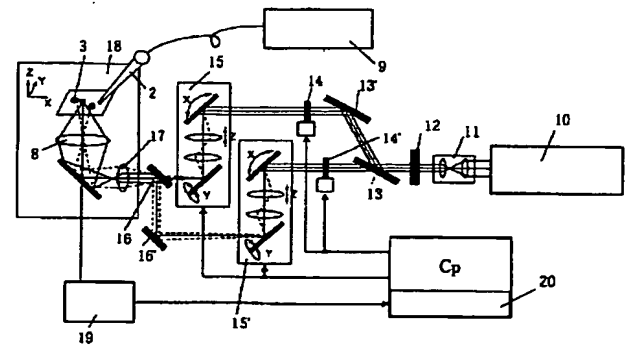
【図 1】



【図 2】

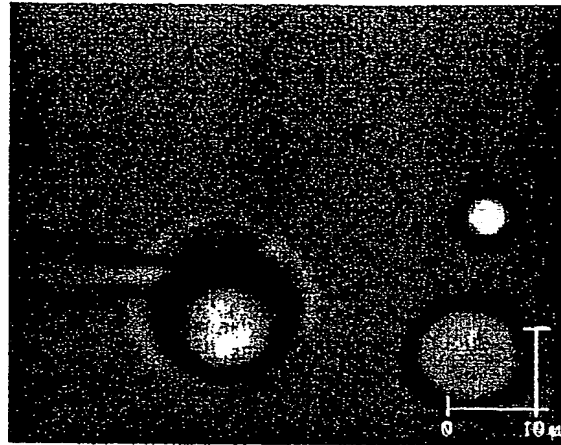


【図 3】



(6)

【図4】



フロントページの続き

(72) 発明者 木内 陽介  
徳島県徳島市南矢三町3-3-14-2  
(72) 発明者 福岡 聡  
香川県高松市林町2217番14 独立行政法人  
産業技術総合研究所四国センター内

Fターム(参考) 2G052 AD26 AD42 AD46 CA04 CA07  
CA18 DA09  
2G058 AA03 AA09 EA11 EA14 ED11  
5F072 JJ20 MM14 MM17 YY01 YY11

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**